

学校编码: 10384

学号: 200426018

分类号 _____ 密级 _____

UDC _____

厦门大学

硕 士 学 位 论 文

人 CuZn-SOD 突变基因在聚球藻中的
高效表达及活性研究

The Expression and Activity of Mutated Human

CuZn-SOD in *Synechococcus* sp.PCC7942

高淑彬

指导教师姓名: 刘仁海 副教授

章 军 副教授

专 业 名 称: 水生生物学

论文提交日期: 2007 年 4 月 29 日

论文答辩时间: 2007 年 6 月 4 日

学位授予日期: 2007 年 月 日

答辩委员会主席: 高亚辉教授

评 阅 人: _____

2007 年 6 月

厦门大学学位论文原创性声明

兹提交的学位论文，是本人在导师指导下独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考的其他个人或集体的研究成果，均在文中以明确方式标明。本人依法享有和承担由此论文产生的权利和责任。

声明人（签名）：

年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人完全了解厦门大学有关保留、使用学位论文的规定。厦门大学有权保留并向国家主管部门或其指定机构送交论文的纸质版和电子版，有权将学位论文用于非赢利目的的少量复制并允许论文进入学校图书馆被查阅，有权将学位论文的内容编入有关数据库进行检索，有权将学位论文的标题和摘要汇编出版。保密的学位论文在解密后适用本规定。

本学位论文属于

- 1、保密（ ），在 年解密后适用本授权书。
- 2、不保密（☒）

（请在以上相应括号内打“√”）

作者签名：

日期： 年 月 日

导师签名：

日期： 年 月 日

目 录

摘要.....	1
英文摘要.....	3
前言.....	5
1 超氧化物歧化酶(SOD)研究进展.....	5
2 蓝藻研究进展.....	16
3 本研究的目的是和意义.....	22
材料与方法.....	24
1 材料.....	24
2 方法.....	30
结果与分析.....	47
1 人 CuZn-SOD 基因突变前后的表达和稳定性比较.....	47
2 含目的基因的蓝藻表达质粒的构建.....	54
3 蓝藻 <i>Synechococcus</i> sp. PCC7942 的转化、筛选与鉴定.....	61
4 外源基因的导入对蓝藻 SOD 活性和同工酶谱的影响.....	64
5 外源基因在蓝藻中的稳定性.....	67
6 动物实验结果.....	68
讨论.....	74
1 启动子的选择.....	74
2 同源重组法在蓝藻中表达外源基因.....	74
3 SOD 的稳定性.....	76
4 SOD 口服的效果.....	76

5 转化藻抗氧化作用探讨.....	77
6 对本研究的进一步设想.....	78
参考文献.....	80
附录.....	93
致谢.....	97

厦门大学博士论文摘要库

CONTENTS

Abstract (In Chinese)	1
Abstract (In English)	3
Preface	5
1 SOD progress	5
2 Cyanobacterium progress.....	16
3 The purpose and meaning of the study.....	22
Materials and Methods	24
1 Materials.....	24
2 Methods.....	30
Results and Analysis	47
1 The activity and stability comparison of hCuZn-SOD and mutated hCuZn-SOD	47
2 The construction of expression plasmid.....	54
3 Transform, select and identify.....	61
4 Impacts of the extraneous gene on SOD and isozymes of cyanobacteria.....	64
5 The stability of the extraneous gene in cyanobacteria.....	67
6 Results of the animal experiments.....	68
Discussion	74
1 The choice of promoter	74
2 Homologous recombination expression of the extraneous gene in cyanobacteria	74
3 The stability of SOD.....	76

CONTENTS

4 The effects of oral SOD.....	76
5 Discussion on the effect of transgenic cyanobacteria on antixidation.....	77
6 The idea of further study.....	78
References.....	80
Addenda.....	93
Acknowledgement.....	97

摘要

超氧化物歧化酶 (Superoxide dismutase, SOD) 是一种重要的氧自由基清除剂, 它催化超氧阴离子自由基 (superoxide radical, $O_2^{\cdot-}$) 的歧化反应。 $O_2^{\cdot-}$ 被认为对各种生物大分子及其它细胞组分具有严重的损伤作用, SOD 能预防和治疗由超氧阴离子自由基引起的多种疾病如家族性肌萎缩性侧索硬化 (FALS) 等。在临床上, 已用于一些炎症、肿瘤、皮肤病、心血管病等疾病的治疗, 用于延缓衰老。在国外, 已有含 SOD 化妆品制剂、抗辐射 SOD 胶囊、治疗局部缺血症 SOD 制剂等的专利生产。美国、日本及西欧一些国家早已开发重组人 SOD 药物, 有的已经进入 II 期和 III 期临床研究。因而 SOD 是一种很有前途的药用酶, 作为保健食品及化妆品的有效成分亦有广泛的应用前景, 但 SOD 在体内的稳定性比较差、半衰期比较短, 从而使其功能的发挥受到一定的限制。

本研究分别构建人铜锌超氧化物歧化酶 (hCuZn-SOD) 和突变 hCuZn-SOD 表达载体并在大肠杆菌中表达, 测定两种 hCuZn-SOD 在不同温度及 pH 条件下的酶活力。结果表明, 两种重组蛋白主要以包涵体形式存在, 表达量都占菌体总蛋白的 45% 以上, 突变 hCuZn-SOD 酶活力高于 hCuZn-SOD, 且突变 hCuZn-SOD 稳定性高于 hCuZn-SOD, 提示从基因突变的角度改善酶的性能的尝试是有益的。然后根据文献提供的序列, 设计引物, 用 PCR 技术扩增得到藻蓝蛋白 cpc 启动子, 经过测序, 多步克隆, 与目的基因 hCuZn-SOD、rbcS polyA 终止区和 Km 基因连接, 构建为 pCMSOD 质粒。然后用 *EcoRI* 和 *SaII* 对蓝藻 *Synechoccus* sp. PCC7942 的总染色体进行双酶切, 所得的随机片段与经过同样双酶切的表达重组质粒 pcMSOD 大片段 (含 cpc 启动子、hCuZn-SOD 基因、rbcS polyA 终止区和 Km^r 基因) 连接, 构建成为含有蓝藻染色体 DNA 同源片段的供体表达质粒。利用自然转化法将该供体质粒转化宿主 *Synechoccus* sp. PCC7942, 通过卡那霉素筛选得到具有卡那霉素抗性的转基因藻株。该藻株在 BG-11 培养基中生长良好, 提示随机整合靶位合适。以 hCuZn-SOD 基因片段两侧序列设计引物对转化藻株的基因组 DNA 进行 PCR 扩增并测序, 证明目的片段已经整合到宿主的基因组中。转化藻通过光强 1200lx 诱导后, 进行 SDS-PAGE, 通过凝胶电泳分析发现与预期外源目的基因表达产物 hCuZn-SOD 大小相当的 16KD 左右的特异蛋白条带, 蛋白扫描结果显示目的蛋白占可溶性蛋白的 6.8%, 通过 Western-blot 进一步证实了此特异蛋白

的存在。动物实验结果显示转 hCuZn-SOD 突变基因聚球藻可明显提高小鼠血清谷胱甘肽过氧化物酶（GSH-PX）活力和全血过氧化氢酶（CAT）活性，显著提高小鼠血清和肝脏中 CuZn-SOD 和总 SOD（T-SOD）的活力，显著降低小鼠血清和肝脏的丙二醛（MDA）含量，提示转 hCuZn-SOD 突变基因聚球藻有较强的抗氧化作用。

本研究首先分别构建 hCuZn-SOD 和突变 hCuZn-SOD 表达载体并在大肠杆菌中表达，比较两种表达蛋白的酶活力和稳定性，然后通过随机整合方式将突变的 hCuZn-SOD 基因整合到蓝藻 *Synechoccus* sp. PCC7942 染色体上，动物实验证明转突变 hCuZn-SOD 基因蓝藻口服后具有较强的抗氧化作用，本研究结果具有一定理论意义和应用价值，为进一步研究开发半衰期长的可直接口服的 hCuZn-SOD 奠定了基础。

关键词：突变 hCuZn-SOD； *Synechoccus* sp. PCC7942； 表达； 抗氧化作用

Abstract

The Superoxide dismutase is an important oxygen free radical scavenger which catalyzes the superoxide anion radical disproportionation reaction. It was considered that O_2^- has serious damage to biological macromolecule and other cell components. SOD can prevent and treat the many kinds of diseases which causes by the superoxide radicals (such as familial amyotrophic lateral sclerosis, FALS). It has been used in some diseases such as inflammation, tumor, skin disease, cardiovascular disease treatment and anti-senescence and so on. There are some patents to produce SOD cosmetics, anti-radiation SOD capsule, SOD preparation to treat the blood sickness. In some countries such as America, Japan and Western Europe, recombinant human SOD drugs were developed early, some of which have already reached stage II and stage III clinical study. It's considered that SOD is a promising medicinal enzymes. As one of the health foods and the effective cosmetic component, SOD has a widespread application prospect. However, the stability of SOD in vivo is relatively poor and the half-life is relatively short, so there are some limitations for SOD in fulfilling its functions.

The human copper,zinc-superoxide dismutase (hCuZn-SOD) gene and its mutated one were separately cloned into a prokaryotic expression plasmid and expressed in *E.coli*. And then the activities of expressed hCuZn-SOD were determined at different temperatures and pH. Results show that the expressed recombinant of mutated hCuZn-SOD and normal hCuZn-SOD protein accounted for more than 45% of the bacteria's total protein and most of them existed as insoluble protein. The mutated hCuZn-SOD has higher activity than hCuZn-SOD. Furthermore the mutated hCuZn-SOD is stabler than hCuZn-SOD. From the perspective of gene mutation, the effort to improve the efficiency of enzyme is beneficent. The nucleotide sequence of cpc promoter was obtained by PCR. The expression vector pCMSOD which contained cpc promoter, hCuZn-SOD gene, rbc-polyA terminator and reporter gene (Km) was constructed. The pCMSOD plasmid, in the end, was introduced into cells of *Synechococcus* sp.PCC7942 with homologous recombination platform, and

transformants were screened by Kanamycin. Results of PCR and DNA sequence analysis showed that the target nucleotide had been genetically integrated into genome DNA of the host cell. After induced at 1200lx, the hCuZn-SOD protein was detected by SDS-PAGE and Western Blot in the transgenic *Synechococcus* sp. PCC7942. The result of protein scan showed that the aimed protein is 6.8% of the total dissoluble protein. The animal experiment results showed that the activities of Glutathione peroxidase (GSH-PX) in serum and the activities of Catalase (Cat) in blood were increased obviously; that the activity of SOD in serum and liver were increased markedly; that the content of Maleic Dialdehyde (MDA) in serum and liver were decreased obviously. It indicated that the transgenic *Synechococcus* sp.PCC7942 had obvious antioxidant effect in vivo.

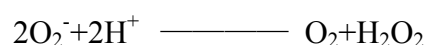
In this study the hCuZn-SOD gene and its mutated one were separately cloned into a prokaryotic expression plasmid and expressed in *E.coli*. And then the activity and stability of mutant hCuZn-SOD and hCuZn-SOD were compared. Then the mutant hCuZn-SOD was introduced into cells of *Synechococcus* sp.PCC7942 with homologous recombination platform. The animal experiment also showed that the transgenic *Synechococcus* sp.PCC7942 could enhance animal's antioxidative ability. The results of this study have certain theoretical significance and practical value. The study provide a basis for further research of oral hCuZn-SOD with much longer life.

Key words: mutated hCuZn-SOD; *Synechococcus* sp.PCC7942; expression; antioxidant

前言

1 超氧化物歧化酶(SOD)研究进展

1938 年 Mann 和 Keilin^[1], 首次从牛红细胞中得到一种含铜蛋白——血铜蛋白。1953 年又有科学家从马肝中分离出相似的蛋白质, 但当时他们并没有发现这种蛋白质的生理活性。在 Fridovich 指导下, 1968 年 McCord^[2]用美蓝、黄嘌呤氧化酶和黄嘌呤系统研究细胞色素 C 还原作用时, 意外地发现血铜蛋白原来是一种酶蛋白。1969 年 McCord 和 Fridovich^[3]发现此蛋白能使超氧阴离子自由基 $O_2^{\cdot-}$ 发生歧化反应:



并将其定名为超氧化物歧化酶 (Superoxide dismutase, SOD)。

铜锌超氧化物歧化酶 (CuZn-SOD) 作为一种超氧阴离子的捕获剂, 能清除生物体内的 $O_2^{\cdot-}$, 故其在维持生物体内自由基的产生与消除的动态平衡中起着重要作用^[4], 在防御氧的毒性, 抗辐射损伤, 预防衰老以及防治肿瘤和炎症等方面有重要意义。自发现以来, 就引起生物、化学、医学等领域学者的广泛注意, 并已应用于食品、医药、化妆品等方面。

1.1 SOD 的种类及来源

SOD 是一种金属酶类, 几乎存在于所有的生物体中, 迄今为止, 科学家已从细菌、真菌、原生动物、藻类、昆虫、鱼类、植物和哺乳动物等生物体内都分离得到了 SOD。根据其辅基部位结合的不同金属离子可分为三种类型: (1) CuZn-SOD: 主要存在于真核细胞的细胞浆中, 由两个亚基组成, 每个亚基中各含有一个 Cu 和一个 Zn。广泛存在于动物血 (猪、牛、羊、马、狗等禽类)、动物脏器、菠菜叶、豌豆、酵母、刺梨等动植物体内^[5]。在植物中, CuZn-SOD 是三种超氧化物歧化酶中含量最丰富的一类, 主要存在于叶绿体、胞质、细胞核和质外体中^[6]。目前国内研究开发较多的也是 CuZn-SOD。(2) Mn-SOD: 主要存在于原核细胞中和真核细胞的线粒体中, 在高等植物中的过氧化物酶体中也含有。来自原核细胞中的 Mn-SOD 是由二个亚基组成, 而来自真核细胞线粒体中的 Mn-SOD, 是由四个亚基组成, 每个亚基中各含一个 Mn。(3) Fe-SOD: 主要存在于原核细胞及少数植物细胞中, 有些生物体在诱导条件下也会表达

Fe-SOD^[7]，由二个亚基组成，每个亚基中各含一个 Fe。除了以上这 3 种酶，Kim 等人从链霉菌 *Streptomyces spp.* 和 *S.coelicolor* 中发现两种新的 SOD 酶，一种是以 Ni 作为金属辅基的即 Ni-SOD，另一种性质类似于 Fe-SOD 的含铁和锌的酶即 FeZn-SOD，它们均为四聚体，表观分子量分别是 13KD 和 22KD，它们之间没有免疫交叉反应^[8-10]。此外，牛肝中还可能存在一种 CoZn-SOD。一般来说，SOD 属于细胞内酶，但 1992 年在人的血清中分离到一种独特的具有 SOD 活性的因子，简称 EC-SOD，即胞外 SOD，这种 SOD 在多种哺乳动物的体内也发现。随着研究的深入发展，仍有可能在其他生物体内发现新的超氧化物歧化酶类型。

1.2 CuZn-SOD 的理化性质：

CuZn-SOD 的吸收光谱决定于酶蛋白和金属辅基^[11]。不同来源的 CuZn-SOD 的紫外吸收光谱略有差异，如牛红细胞 SOD 在 258nm 处显示最大吸收峰，而人红细胞 SOD 的最大吸收峰为 265nm。然而，几乎所有的 CuZn-SOD 的紫外吸收光谱的共同特点是对 250—270nm 均有不同程度的吸收，而在 280nm 的吸收峰不存在或不明显，其原因是该酶色氨酸和酪氨酸的含量较低^[12]，可见光最大吸收波长都在 680nm 左右，这反映了酶分子中 Cu^{2+} 的光学特性。

CuZn-SOD 对热、pH 以及某些理化性质等一般较稳定。天然牛血 CuZn-SOD 在 0.01mol/L pH7.8 磷酸钾缓冲液中，75℃ 下加热数分钟，其酶活性丧失很少^[13]。在离子强度很低的情况下，加热至 95℃，CuZn-SOD 的活性损失亦很少，熔点温度 (T_m) 的测定表明 CuZn-SOD 是迄今发现热稳定性最高的球蛋白之一。处于还原状态的酵母 CuZn-SOD 在 75℃ 下的 NMR 图谱与 40℃ 下的没有差别。表明在 75℃ 下不仅蛋白质能够抵抗不可逆的变性作用，而且在 40℃ 到 75℃ 之间，蛋白质的主要构象特征也没有发生改变。上述异常高的热稳定性归功于金属辅基的存在。1973 年 Forman 和 Fridovich 报道了金属离子对牛红细胞 CuZn-SOD 热失活的影响，去金属后的 Apo-SOD 在 49.4℃ 下加热 10min 就有 50% 的失活。CuZn-SOD 对 pH 的变化不太敏感。动物血红细胞 SOD 在 pH5.0-9.5 范围内，其催化活性不受影响，而且在此范围内，酶的可见光、紫外光、电子自旋共振图谱也不发生变化。用 4% 的 SDS 处理，CuZn-SOD 不解聚为亚基，酶活性也不受影响。单独使用 8M 尿素，不引起 CuZn-SOD 解聚，只有在含有 SDS、EDTA 的 6M 尿素中 SDS 才引起解聚^[14]，用 SDS 处理时，必须再加巯基乙醇才能使其降

解。并对多种蛋白酶和化学物质都有抗性^[15]。

SOD 是金属酶, 用电子顺磁共振测得, 每 mol 牛血 SOD 含 1.93mol 的 Cu 和 1.8mol 的 Zn, 牛肝 SOD 则含 1.84mol 的 Cu 和 1.76mol 的 Zn。Cu 和 Zn 的作用是不同的, Cu 与催化活性有关, 如采用物理或化学方法除去 Cu 离子, 则酶活丧失, 如重新加上 Cu 离子, 则酶活又恢复^[16]; 而 Zn 对维持酶分子结构的完整性有着重要的作用。有实验表明: 在 CuZn-SOD 中, 一旦与 Zn 结合的组氨酸和天冬氨酸被丙氨酸取代, 则酶的折叠结构及完整性遭到破坏^[17]。CuZn-SOD 酶活性受 H_2O_2 和 KCN 抑制^[18], 只要 1mmol/L~2mmol/L 的氰化物浓度即使其活性完全丧失, 长时间用过氧化氢处理可使 CuZn-SOD 失活。氯化胍能抑制 CuZn-SOD 活性^[19], 如在 pH10.2 的条件下, 0.2mol/L 的氯化胍可抑制酶活性的 40%, 1.2mol/L 则抑制 100%, 但用稀释法可使抑制可逆。

1.3、CuZn-SOD 的结构

比较不同来源的 CuZn-SOD 的氨基酸序列可发现, 无论是来自细菌、真菌、高等植物细胞浆或叶绿体, 还是来自高等动物和人的细胞浆, 它们的同源性都很高。有些氨基酸还很保守, 在所有的序列中都不变, 这暗示着这些氨基酸与活性中心有关。从不同来源提取纯化的酶, 除个别性质差异较大外, 其他都有类似的性质。不过, 其蛋白质部分随着种属来源不同, 在氨基酸顺序或组成上尚有一些差异, 从而使酶的性质不能完全一样。如灵长类动物中有 94~99.6% 的同源性, 灵长类动物和非灵长类之间有 76.1%~84.9% 的同源性^[20], 来自被子植物细胞浆的 CuZn-SOD 彼此同源性在 80%~90%, 来自叶绿体 CuZn-SOD 同源性高达 90% 以上, 而细胞浆与叶绿体的 CuZn-SOD 的同源性只有 68%。可见叶绿体 CuZn-SOD 与细胞浆 CuZn-SOD 由于在不同亚细胞结构中发挥功能, 虽然它们在进化上起源相同, 但存在一定的差异^[21]。

CuZn-SOD 是一种酸性蛋白, 业已提纯的 CuZn-SOD, 除从人肺中提纯的相对分子质量为 135,000 的酶是 4 亚基外, 其余的都含有 2 个亚基, 相对分子质量约为 31,000~33,000, 每个亚基分子量约为 15000~17000^[22], 每个亚基上共价连结 1 个 Zn 离子和一个 Cu 离子(见表 1)。

表 1 CuZn-SOD 的分子量、亚基分子量和亚基数

Table1 The molecular weight and subunit weight of CuZn-SOD and the content of Cu and Zn

酶来源	分子量	亚基数	亚基分子量	金属（亚基数）	
				Cu	Zn
人肺或细胞外液	135000	4	29000-30000	1	1
人红细胞	32000	2	15900	1	1
马肝	33000	2	16500	1	1
牛红细胞	33900	2	17000	1	1
牛心	32500	2	16000	0.8	0.9
小鸡肝	30600	2	15500	1	1
箭鱼肝	32500	2	16500	1	1
菠菜叶	32200	2	16100	1.1	1.1
粗糙脉孢菌	31100	2	15500	1	1
酿酒酵母	30500	2	15000	0.9	1

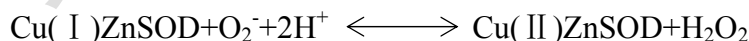
根据 1975 年 Richardson^[23]的研究结果, CuZn-SOD 是由两个基本上相似的亚基组成的二聚体, 每个亚基的分子量为 16KD, 含有一个铜原子和一个锌原子。Richardson 测定了其活性中心, 指出由两个亚基组成的 SOD 活性部位正好是以 Cu 为中心的一个“疏水口袋”, 这一疏水微环境有利于反应的进行, 口袋边有一带正电荷的精氨酸 Arg₁₄₁, 它有吸引 O₂⁻进入口袋的作用, 并诱导 O₂⁻进入活性中心, 可在催化反应中提供质子使催化反应大大加快。1982 年, Tainer^[24]等获得了牛红细胞 CuZn-SOD 的 0.2nm 分辨率电子密度图, 显示出亚基的结构核心是一个由八股反平行的 β 折叠围成的圆桶状结构, 称之为 β 桶 (β -barrel), 其一侧尚有两个无代表性结构的环 (loop), 整个结构含 α 螺旋较少。

每个 CuZn-SOD 酶分子由两个亚基通过非共价键的疏水相互作用缔合成二聚体, 两个亚基间的相互作用提高了酶的催化活性和稳定性^[25]。肽链内部由半胱氨酸 C₅₅ 和 C₁₄₄ 的巯基 (-SH) 构成的二硫桥对亚基缔合起重要作用。X 射线衍射晶体结构分析表明, CuZn-SOD 的活性部位包含 1 个咪唑桥联的 Cu(II)、Zn(II)

结构, Cu(II)与 1 个弱配位的水分子和 4 个来自组氨酸残基 (His-44, -46, -61 和-118) 的咪唑氮配位, 呈现向三角双锥畸变的四方锥构型。Zn(II)则与 3 个来自组氨酸残基 (His-61,-69,-78) 的咪唑氮和 1 个天门冬氨酸残基 (Asp-81) 的羧基氧配位, 处于 NO 原子组成的扭曲四面体配位环境中。此外, 天冬氨酸 122 与组氨酸 69 和组氨酸 44 之间形成氢键, 由此构成了 Cu、Zn 之间第二座间接的桥。这两座“桥”在酶的催化反应过程中对酶结构的稳定起着重要作用。Cu²⁺和 Zn²⁺对活性中心的作用亦不同, Cu(II)对酶的活性起着决定性作用, 咪唑桥和 Zn(II)对酶的活性也有贡献^[26], 主要起稳定蛋白质结构的作用。Ferraroni^[27]等在高浓缩的 CdCl₂ 中获得单体人 CuZn-SOD 突变的 Q133M2SOD 的晶体结构, 镉和铜同时连接到原铜位点上, 镉离子大约占原铜位点的 45%, 连接 4 个组氨酸 (His-46, -48,-120,-63), 铜离子和两个远一点的水分子, 形成八面体构型。真核生物中的 CuZn-SOD 呈非常保守的四面体构型, 相反的是, 原核生物中的 CuZn-SOD 在结构上有很大的变化(如在大肠埃希氏菌中), 从单体形式变成二聚体, 在单体和二聚体之间是均衡的^[28,29]。

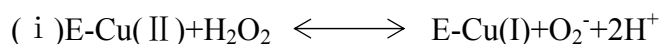
1.4 CuZn-SOD 作用机制

CuZn-SOD 歧化 O₂⁻ 的反应极快, 催化速率常数在 10mol L⁻³ s⁻¹ 左右, 这给 SOD 的催化机理和反应动力学研究带来困难。目前, SOD 的作用机制还未能从动力学研究、中间物检测、X-射线晶体衍射、氨基酸侧链化学修饰以及定点突变等主要实验方法中取得相互一致的结果。彻底阐明 SOD 的催化机制尚待进一步研究。一般认为催化过程按下述机理进行^[30]:



其中 O₂⁻ 进入活性部位与 Cu 原子接近为限速步骤, Lys136, Glu133, Arg69, Lys70, Arg143 构成的离子通道使 O₂⁻ 离子得以接近活性中心的 Cu 原子, 底物进入的速率要远低于活性中心发生催化反应的速率。因而这一步骤决定着 CuZn-SOD 催化反应的速率。

Liochev^[31]等人发现在 pH7.4 是 CO₂ 而不是 HCO₃⁻ 促进了 CuZn-SOD 的过氧化催化反应。催化过程如下:



Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库